

優先権主張
 国名 フランス国
 出願日 1972年5月8日
 出願番号 第7215696号
 出願日 年 月 日
 出願番号 第 年 月 日
 出願日 年 月 日
 出願番号 第 年 月 日



優先権証明書

⑨ 日本国特許庁
 公開特許公報

特 許 願

昭和48年5月1日

特許庁長官 三宅 幸夫 殿

1. 発明の名称 セイゾホウカウ
改良されたL-リジンポリマーの製造方法
2. 発明者
住 所 フランス国リ・オランギ・エツソヌ・リュドウベアルン3
氏 名 ロドルフ・マルグラツフ (ほか1名)
3. 特許出願人
住 所 フランス国ペリー8エーム・アグエニユー
モンテーニュ22
氏 名 ローヌ・ブーラン・エス・ア
(氏名)
代 表 者 追 完
国 籍 フランス国
4. 代 理 人 〒107
住 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号
日本自転車会館
氏 名 (0078) 青垣土 小田 島 平 吉
電 話 585-2256

⑪特開昭 49-48785
 ⑬公開日 昭49.(1974)5.11
 ⑭特願昭 48-47687
 ⑮出願日 昭48.(1973)5.1
 審査請求 未請求 (全12頁)

庁内整理番号

⑫日本分類

7133 45
 7215 45
 6793 44

266E111
 266E02
 30 C4

明 細 書

の繰り返し単位と式:

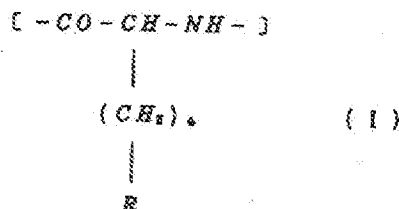
1. 【発明の名称】

改良されたL-リジンポリマーの製造方法

2. 【特許請求の範囲】

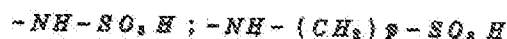
50より多い繰り返し単位をもつL-リジンポリマーを-NH₂基と反応することのできる試薬と既知の方法で反応させて、-NH₂基を-R基に変えることを特徴とする、

本質的に式:



の繰り返し単位とから成る改良されたL-リジンポリマー

〔但し、式(I)の繰り返し単位の全数がnであつた式(II)の繰り返し単位の全数がmであつて、n+mが50より大きい、但し、mは0であつてもよい、また各R基は、同一であつても相異なつていてもよく、次の基のうちの1つを要する:



〔但し、 α は1〜4であるポリ(アミノ酸)〕；
 $-NH-(CH_2)_x-COOH$ ； $-NH-CO-$
 CH_2-CH_2-OH ； $-NH-CO-(CH_2)_x-$
 SO_3H ； $-NH-CO-NH_2$ ； $-NH-\overset{\text{NH}}{\underset{|}{C}}-NH_2$ ；
 $-OH$ および $-N(CH_3)_2$ 〕

の製造方法。

3. 【発明の詳細な説明】

本発明はポリ(改良されたL-リジン)の製造方法に関する。

塩基性 α -アミノ酸ポリマーの非常に多様な生理学的性質は、特に当分野におけるKotobolskyによる独断的研究の結果として、数年前から知られてきている。天然の α -アミノ酸から誘導されるホモポリマーのポリ(塩基性 α -アミノ酸)の中で、 ϵ -位のNH₂基が4個のメチレン基によ

り、ATPアーゼに対する ϵ に類似の効果、

g) 血漿アルブミンとの相互作用、

h) ヒストン類似効果をもつ天然および人工の複製の複体形成、リボ複製合成の阻害および生きている細胞の染色体複製の制御、

i) インフルエンザおよび天然痘ウイルスの、およびニューカッスル病のウイルスの増殖の抑制ならびに寄離蛋白質長のウイルスに対するマウスおよび鶏の生体内での保護、

j) 大腸菌ファージT2、T4およびT5のようなバクテリオファージの不活性化、

k) エールリシと腫瘍およびアデノカルシノマT43の抑制をもつ抗腫瘍効果、

l) 多数の微生物の増殖および発芽の抑制およびその結果としての抗菌作用および殺菌効果、

ポリペプチド類からはなれているポリ(L-リジン)は、鎖により近いNH₂基を有するポリマーと比較して、種々の生理学的効果が最も顕著である立体配置をもつ。これらの効果は特に次のことに関する：

a) 非常に広いpH範囲にわたって、特に

1.7程度の酸性のpHに対して、ペプシンの酵素活性の阻害、

b) 筋肉のホスホリラーゼ α との相互作用、

c) ポリヌクレオチドホスホリラーゼの活性化、

d) リボタンパクリパーゼの阻害、

e) 高濃度を用いた場合酸化型に対して阻害効果をもたらす逆に低濃度を用いた場合は活性化効果をもつチトクローム酸化酵素の阻害、

m) 補体結合、

n) 抗ヘパリン効果と組合わさつたトロンビンの生成を阻害することによる血液抗凝集活性、および

o) 血栓への凝集活性

逆の効果が共存するとき、性質の強さおよび、時には、方向はポリ(L-リジン)分子の外側に現われているNH₂基の存在および配位と密接に関係しており、この後者の配位はある実験条件下で現われる隣接したペプチド結合の水素原子と酸素原子との間の水素結合によるらせん形に露出している。

多くの上述の性質は、ポリ(リジン)の α -アミノ基の電荷と逆の電荷をもつカルボキシル基を与える適当な量のポリ(アスパラギン酸)またはポ

リ(グルタミン酸)をポリ(L-リジン)が伴うとき、選択的に、改良されたり、減少したり、除去されたりあるいは逆に増えたりすることがある。しかしながら、電荷の非化学的中和からの結果としての生理学的効果は媒質のイオン強度に非常に鋭敏である。その理由は塩溶液が2つのポリマーの鎖の間にそれ自身はいり込みまたポリペプチド鎖のポリ電解質特性から由来する効果を釣り合わせるからである。

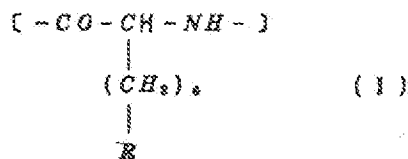
同様に、 ω -カルボキシ基を有する α -アミノ酸(グルタミン酸またはアスパラギン酸)とL-リジンの共重合によりカルボキシ基が与えられるとき、いくつかの性質が変化するが、この場合、ポリペプチド鎖のらせん形の性質に関連している性質は鎖全体にばらまかれた種々の単位が存在に

より影響される；実際において、分子の外側でのイオン性質の出現が分子のらせん形に密接に関連しているということを考慮すると、このらせんの一様性は分子の生理学的性質に対して大きな影響をもつということがわかる。

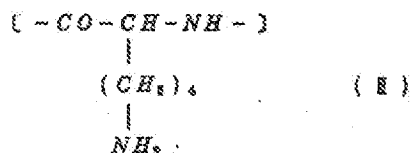
本発明者等は、本発明にしたがえば、媒質のイオン強度に鋭敏である逆符号の電荷を有するホモポリマーの混合物を用いることによつてでなく、また分子のらせん構造を変える ω -位に酸基を有する α -アミノ酸の共重合によつてでなく、相反する基を与えるような表面化学反応を本質的に用いることにより所望の割合でポリ(L-リジン)の側鎖の NH_2 基を修正することにより、上述の生理学的効果を改良することが有利であるということを見出した。可能な反応の中で、最も有利

なものは、スルホン酸またはカルボン酸基による負電荷を導入することを可能にする反応、もしくは塩基の塩素性、あるいは分子の両親媒性特性を変えることを可能にする親水性基をそのまま保持するか除去するかの反応である。

本発明に従つて、式：

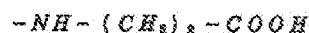
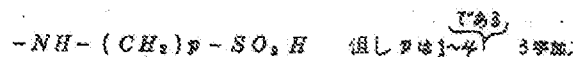
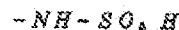


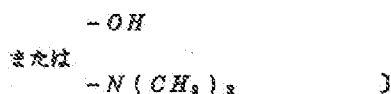
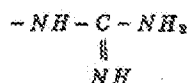
の繰り返し単位と式



の繰り返し単位とから本質的になるL-リジンポリマー

(但し、式(I)の繰り返し単位の全数は n であり、式(II)の繰り返し単位の全数は m であつて、 $n+m$ が50より大きく、好ましくは2000より大きいものであり、 m は0であつてもよく、また式中、各 R 基は、同一であつても相異なつていてもよく、次のものを表わす：





が提供される。

種々の基-Rは、-NH₂基をこれらの基-Rのうちの1つに変える既知の任意の方法を適用することにより、ポリ(L-リジン)の分子上に、生成させることができる。

このように、例えば、アミノ基をポリジン-無水硫酸錯体のような適当なスルホン化剤との反応によりスルホン化して-NHSO₃H基を与えることができ、またそれぞれスルトンまたは無水β-スルホプロピオン酸との反応によりアミノ基を-NH(CH₃)₂SO₃H または -NHCO

(CH₃)₂SO₃H 基に変えることができる。

酸性条件下ではβ-プロピオラクトンとの反応により-NH(CH₃)₂COOH基を生じさせることができ、一方、塩基性条件下では-NHCOCH₂CH₂OH基を生じさせることができる。

無機イソシアネ酸塩との反応により-NH-CO-NH₂を生じさせることができ、一方、-NH-C-NH₂基は硫酸5-メチル-イソチオクロ

ニウムとの反応により生成させることができる。

-NH₂基を、例えばポリマーのホルムアルデヒドおよびギ酸との反応により、2つのメチル基で置換させることができる。例えば亜硝酸ナトリウムと臭化水素酸とを用いて亜硝酸でアミノ基をヒドロキシ基に変えることができる。さらにこれら

の方法の詳細は以下の実施例で述べる；類似の方法を、もちろん使用できる。

種々の基-Rの性質と相対的割合は、所望の生理学的効果を与えるような方法で調節することができる。逐次的にあるいは同時に、各々の基を独立に制御された程度に導入することが可能である。さらに、ポリ(L-リジン)は、それが50以上の繰り返し単位を含むならば、任意の分子量であることができる。

本発明に従つて得られるポリマーは、生物のイオン強度と酸性度とに対応するそれをもつ水溶液(pHがほぼ7.35でイオン強度がN=Clに關しては0.150M)中に可溶であり、ヘパリノイドまたはヒルダイノイドのような既知の構造の生成物の非凝固活性と逆の新しい型の非凝固活性

をもつ。さらに、適当な2官能性化合物との反応により、あるいはα-位にある基の相互の反応を助けることにより、α-位にある基の分子内交差結合によつて、ポリマーを顆粒、フィルムおよびラツカーの形で不溶性にすることができる。可溶な生成物をまた、同じ基によつて反応性の場所を有する表面上に、上述の改良された生理学的性質を該表面に与えるために、固定させることができる。その生理学的性質のうちで、最も価値があるのは上述の成分で製造された表面とタンパク質および血液凝固系の酵素の適合性である。

特に価値ある場合はR=-NH-SO₃Hのとて、それが制御されて導入されると、全体の非凝固効果を維持しながら血栓に対する凝集効果を取除くことを可能にする。

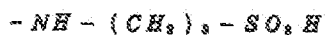
本発明に従う改良されたL-リジンの重合体は従つて、生理学的体液と接触することを意図されている製品あるいは被覆を製造するのに用いることができる。それらはまた、ヘベリンを主剤とする組成物に類似して抗凝固剤として治療に用いることのできる適当な製剤上の担体または希釈剤を含む薬剤組成物を製造するのに用いることができる。

次の実施例は本発明をさらに説明する。

実施例 1

炭酸カリウム(2.7g)とプロパンスルトン(1.22g)とを水(100cc)中のポリ(L-リジン臭化水素塩)(約4,000 L-リジン単位に等しい重合度をもつ)(2.3g)の溶液に加える。

単位と17%の、Rが式：

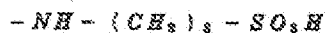


である式(1)の単位とから成るポリ(スルホプロピル化L-リジン)(0.8g)が得られる。

実施例 3

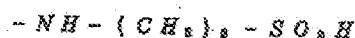
実施例2の手順に従つて、溶液を5時間加熱した後、 K_2CO_3 (700mg)とプロパンスルトン(1.22g)とをそれに加へ、全体を50℃に5時間放置する；この後者の操作を5回繰り返す。

透析、沈殿および乾燥の後、Rが基



である100%の式(1)の単位から成る完全にスルホプロピル化ポリ(L-リジン)(1.0g)が得られる。

50℃に3時間加熱後、プロパンスルトン(さらに1g)を加へ、50℃で加熱を8時間続ける。次いで溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水(10L)に対して48時間透析し、次いでエタノールを加へることによりポリマーを沈殿させ、乾燥する。61%の式(II)の単位と39%の、Rが式：



の基である式(1)の単位とから成るポリ(スルホプロピル化L-リジン)(1.0g)がこうして得られる。

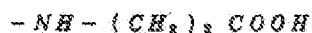
実施例 2

3.75gの炭酸カリウムを用いて実施例1の手順を繰り返す；混合物を50℃で5時間加熱する。透析、沈殿および乾燥の後、83%の式(II)の

実施例 4

塩化メチレン(50cc)と凍結乾燥したポリ(L-リジン)塩基(4,000の重合度をもつ)(0.385g)とから成る撹拌されている懸濁液にβ-プロピオラクトン(85μL)を加へ、全体を20℃で20時間撹拌する。次いで固体物質を濾過して取り、ジエチルエーテルで洗い乾燥する。乾いた生成物(0.280g)を得、それを室温で0.1N塩酸水溶液(50cc)中で3日間撹拌する。こうして得た溶液を濾過し、次いで再生セルロース膜を通して蒸留水(10L)に対して透析する。保持された分量を凍結乾燥すると[L-リジン]-[N-(2-カルボキシエチル)-L-リジン]コポリマー(0.18g)を与へ、それは水に可溶であり、また72.5%の式(II)HClの

単位と27.5%の、Rが基



である式(1)の単位とから成る。

実施例 5

ポリ(L-リジン臭化水素塩)(4.000の重合度をもつ)(0.45g)を蒸留水(25cc)に溶解し、溶液を浴中で0℃に冷却し、1N NaOHの水溶液(2.15cc)を攪拌しながら滴下して入れる。β-プロピオラクトン(0.27cc)を加え、室温で混合物を90時間攪拌する。溶液を濾過し、次いで再生セルロース膜を通して蒸留水(10ℓ)に対して48時間透析する；保持された分量を次いでメタノールを加えて沈殿させ、ジエチルエーテルで洗ひ乾燥する。こうして、[N-ε-(3-ヒドロキシプロピオニル)-L-リジン]-

イド-L-ノルロイシン](0.7g)が得られ、それは水に可溶であり、25%の式(II)・HBrの単位と75%の、Rが基-NH-CO-NH₂である式(1)の単位とから成る。

同じ条件下で、シアニ化カリウムが20時間作用した後、シアニ化カリウム(0.45g)の添加を繰り返し、混合物を再び20℃で20時間放置する。透析、沈殿および乾燥の後、得られるポリ[ε-ウレイド-L-ノルロイシン]はRが-NH-CO-NH₂である100%の式(1)の単位を含む。

実施例 7

水(20cc)中のNaNO₂(1.0g)の溶液を、0℃に冷却されている0.1Nの臭化水素酸の水溶液(50cc)中のポリ(L-リジン臭化水素

[N-ε-(2-カルボキシエチル)-L-リジン]コポリマー(0.30g)を得、それは水に可溶であり、またもつばら式(1)の単位から成り、Rが75%の単位中で基-NH-CO-CH₂-CH₂OHでまた25%の単位中で基-NH-(CH₂)₃-COOHである。

実施例 6

ポリ(L-リジン臭化水素塩)(4.000の重合度をもつ)(1.05g)を蒸留水(40cc)に溶解し、水から新しく再結晶したシアニ化カリウム(0.45g)を加え、全体を20℃で20時間攪拌する。溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水(10ℓ)に対して48時間透析し、保持された分量をメタノール中で沈殿させ、乾燥する。

こうしてポリマー-[L-リジン]-[ε-ウレ

イド-L-ノルロイシン](1.045g)の溶液に加える。

混合物を室温で20時間放置して反応させる。溶液を再生セルロース膜を通して蒸留水(20ℓ)に対して48時間透析し、次いで保持された分量をエタノール中で沈殿させ、乾燥する。

こうして12%の式(II)・HBrの単位とR-が-OH基を喪失す88%の式(1)の単位とから成る[L-リジン]-[ε-ヒドロキシ-L-ノルロイシン]コポリマー(0.8g)が得られる。

実施例 8

ポリ(L-リジン臭化水素塩)(4.000の重合度をもつ)(1.254g)を蒸留水(100cc)中に溶解する。

四水ウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (6g) を得られた澄んだ溶液に加え、次いで全体を0℃に冷却し、 NaOH の1N水溶液を加えることによりpHを9.8に調節する。

ビリジンを無水硫酸銅体 (2.0g) (*Inorganic Synthesis*, II, p. 173 に従って製造した) を次いで加え、温度を0℃に、また0.1Nの NaOH 水溶液を加えることによりpHを9.8に保ちながら混合物を激しく攪拌する。すべての銅体が溶解したとき、またpHがもはや変化しないとき、反応は完了する。

溶液をろ過し、再生セルロース膜を通して蒸留水 ($2 \times 10 \text{ L}$) に対して透析し、次いでN/10の臭化水素酸水溶液 (10L) に対して、また再び蒸留水 ($2 \times 10 \text{ L}$) に対して透析する。次いで 10^5 ダルトンよりも大きい粒子を保持する

膜をエチルエーテルで洗い、 NaOH の1N水溶液 (100cc) 中に取り。

膜外液のpHが7になるまでアミコンXM 100膜 (10^5 ダルトンよりも大きい粒子を保持する) を通して膜外液を通した後、生成物を凍結乾燥する。

もつばらRが $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ である式(1)の単位から成るポリ[ε-ジメチルアミン-L-ノロイシン] (1g) がこうして得られる。

実施例 10

実施例8の手順に従って、ビリジンを無水硫酸銅体 (1.2g) を加え、温度を0℃に、また1N NaOH 溶液を加えることによりpHを9.8に保持しながら、混合物を激しく攪拌する。

2時間後、銅体 (1.2g) の添加を繰り返し、

アミコン (AMICON) XM 100膜を通して膜外液により、生成物を320ccから30ccに濃縮し、凍結乾燥する。こうして20%の式(1)の単位とRが $-\text{NH}\text{SO}_3\text{H}$ である80%の式(1)の単位とから成る[L-リジン]-[ε-スルフアミノ-L-ノロイシン]コポリマー (1.0g) を得る。

実施例 9

凍結乾燥したポリ(L-リジン)塩基 (4.000の重合度をもつ) (1.3g) を室温で攪拌しながらギ酸 (100cc) 中に溶解する。

次いでホルムアルデヒドの30%水溶液 (2cc) を加え、全体を35℃で1時間熱する。30%ホルムアルデヒド溶液 (さらに2cc) を加え、加熱を35℃で1時間続ける。真空でギ酸を追い出し、

温度とpHとを上述のように保持する。さらに2時間後、ビリジンを無水硫酸銅体 (1.2g) を3回目に加えた後 (全体で3.6gを加えた)、pHを9.8に2時間保持する。次いで混合物を0℃で15時間放置し、実施例8におけるように精製する。

Rが $-\text{NH}\text{SO}_3\text{H}$ である100%の式(1)の単位から成るポリ(ε-スルフアミノ-L-ノロイシン) (1.160g) を得る。

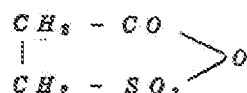
リジン基がないことは Sanger, Biochem. J., 39, 507 (1945) によるジエトロフェニル化により証明される。

実施例 11

ポリ(L-リジン臭化水素塩) (4.000の重合度をもつ) (0.209g) を蒸留水 (15cc)

に溶解する。四ホウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (0.5 g) を得られた澱んだ溶液に加え、次いで全体を 0℃ に冷却し、1 N 水酸化ナトリウム溶液を加えることにより pH を 9.8 に調節する。

Kharasch, M. S. ら, J. Am. Chem. Soc., 62, 2393 (1940) に従つて製造された式:



の無水 β-スルホプロピオン酸を次いで 6 つの等量ずつ加え、その間温度を 0℃ に、また 1 N 水酸化ナトリウム溶液 (20 cc) を加えることにより pH を 9.8 に保持する。

ながら、⁶⁾ 攪拌しつつ、トリエチルアミン (0.3 cc) を滴下して、⁶⁾ 加える。

2-ヒドラジノカルボニル-エタン-スルホン酸ナトリウム 1 水塩 (4.16 g) を 0℃ で 1 N 塩酸 (50 cc) 中に溶解させる。亜硝酸ナトリウム (3.45 g) を少量ずつ加え、混合物を 0℃ で 30 分間放置して反応させる。次いで過剰の亜硝酸を窒素気流下で除去する。こうして得られる澱んだ溶液を上で製造したゲルに加える。混合物を攪拌しながら 0℃ に 1 時間保ち、得られる澱んだ溶液を 20℃ で 15 時間放置し、次いで 10 N 水酸化ナトリウム溶液を加えることにより pH 13 に調節する。次いで生成物を実施例 11 に示したように膜外通過で精製する。

蒸気乾燥の後、25% の式 (I) の単位と 75

反応は pH がもはや変化しないとき完了する。

澱んだ溶液を次いで 10⁵ ダルトンより大きい分子量の塩質を保持する膜外通過膜を通して膜外通過する。保持された分量を、膜外溶液が 10⁵ Ω cm より大きくなるまで蒸留水で希釈する。

保持された分量を次いで凍結乾燥する。こうして、75% の式 (I) の単位と 25% の、R が $-\text{NHCO}(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3\text{H}$ を変化する式 (1) の単位とを含む [L-リジン]-[ε-(3-スルホプロピオニル)-L-リジン] コポリマー (0.168 g) が得られる。

実施例 12

ポリ (L-リジン臭化水素塩) (4.000 g の重合度をもつ) (0.209 g) を水 (15 cc) に溶解させる。得られる澱んだ溶液に、0℃ に冷却し

⁶⁾ % の、R が $-\text{NHCO}(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3\text{H}$ である式 (1) の単位とから成る [L-リジン]-[ε-(3-スルホプロピオニル)-L-リジン] コポリマー (0.254 g) を得る。

2-ヒドラジノカルボニル-エタン-スルホン酸ナトリウム 1 水塩を次のように得る:

0.2 M ナトリウムエテラート (500 cc) を 0℃ で無水テトラヒドロフラン中の無水 β-スルホプロピオン酸 (13.6 g) に加える。沈殿を得る。洗浄および乾燥後、2-エトキシカルボニルスルホン酸ナトリウム (20 g) を得る。

ヒドラジン水和物 (6 cc) と蒸留水 (9 cc) とをその生成物 (11.4 g) に加える。混合物を窒素気流下で 2 時間加熱し、次いで混合物を濾過したが、水 (20 cc) とエタノール (75 cc) とを加

える。冷却後、生成物が沈殿する。濾過および乾燥後、2-ヒドロジノカルボニルエタンスルホン酸ナトリウム1水塩(9.3g)を得る。

実施例 13

[L-リジン]-[L-ホモアルギニン]コポリマー。

ポリ(L-リジン臭化水素塩)(4,000の重合度をもつ)(1.045g)、続いて塩化ホウ酸ナトリウム($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)(1.9g)を逐次、20℃で蒸留水(50cc)に溶解させる。

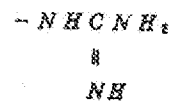
NaOH の1N水溶液(12.5cc)を次いで攪拌しながら滴下して注ぐ。この添加の間、溶液のpHは9.7から10.9に変化する。硫酸S-メチルイソチオクロニウム(1.0g)をこの均一な溶液に加え、全体を攪拌しながら70℃で30分間

熱する。

溶液を20℃に冷却し、 10^5 ダルトンより大きい分子量の物質を保持する膜外濾過膜を通して膜外濾過する。その際、保持される分量を、膜外濾液がもはや臭素イオンを含まなくなるまで

10^{-3} N水酸化ナトリウム溶液で希釈し、次いで 10^5 Ωcmより大きい抵抗をもつ膜外濾液が得られるまで蒸留水で希釈する。

保持された分量を真空乾燥すると、Rが



である50%の式(I)の単位と50%の式(II)の単位とから成る[L-リジン]-[L-ホモアルギニン]コポリマー(0.825g)が得られる。

実施例 14

実施例10に記載のように製造したポリ(α-スルファミノ-L-ノルロイシン)の濃度を漸次増大させて存在させ、クエン酸塩を含む犬の血漿に対して次の測定を行なう。種々のデータが次のように決定された：

Bliss R.M. および Macfarlane R.G., 血液凝固およびその障害 — Black Scientific Publications — Oxford — 1962, に従った、trombin時間、

Quick A.J., J. Biol. Chem., 109, 73 (1935) に従った、クイック(Quick)時間、および

Lauritzen M.J. と Welland C.

[Rev. Hemat., 12, 2 (1957)] に従

った、セファリン-カオリン時間。

比較のために、同じ方法を用いてヘパリンの効果をもこの同じ血漿に対して調べる。次の表は得られた結果を与える。

調 べ た 反 応 試 薬				測定した凝固時間 (秒)		
				時 間	クイック 時 間	セファリン- カオリン時間
改良していないクエン酸塩を含む血漿				9.7	7.0	21.8
"	"	+ポリ(ε-スルファミノ- L-ノルロイシン)	15mg/L	10.8		
"	"	"	30	12.6	10.0	47.2
"	"	"	65	15.7	11.6	59.8
"	"	"	140	21.2	12.0	75.8
"	"	"	310	27.8		
"	"	+ヘパリン	0.15mg/L	12.3		
"	"	"	0.8			45.6
"	"	"	8		9.9	

用いた方法に拘らず、ポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシン)は凝固時間の著しい延長を引き起こすことが見い出される。及ぼされる抗凝固作用は、少なくとも部分的に、ヘパリンの作用(トロンビンに対する作用)と同じ型のものである。

実施例 15

イエウサギの血液(3.6cc)をクエン酸ナトリウムの3.8%水溶液(4cc)上に集め、全体を15℃で90Gで20分間遠心分離する。こうして得られる血漿は、血小板に凝っているが、15℃で1,400Gで10分間遠心分離される。次いで血小板の沈澱をブドウ糖を含むクエン酸溶液(クエン酸ナトリウム:750mg、無水ブドウ糖:120mgおよび生理学的緩液:7.5, 9.10cc)

で3回洗い、最後に、グルコースとアルブミンを含むチロイド(Tyrode)液(4cc)中に再び懸濁させる[Kierough = Ratkows R.L.ら, J. Lab. Clin. Med., 75, 789 (1970)を参照]。

こうして得られる血小板の懸濁(0.8cc)を分光測光用のセルに入れ、チロイド液(2.4cc)を加え、続いて、3分間の後押の後に、生理学的緩液(0.3cc)もしくは生理学的緩液中のG.D. Fasman ら, J. Am. Chem. Soc., 83, 709 (1961)に従って製造されたポリ(L-リジン)のあるいはポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシン)(実施例10)の中性溶液を加える。最後の試薬の添加の前3分間と、その後の10分間の間、600nmでの光学密度を時間

の階数として記録する。

次の表は得られた結果を要約する。

測定の間 間	600nmでの 光 学 密 度
最後の試薬の添加の前	0.500
0.3%の生理学的溶液の 添加の後10分	0.420
0.3%の濃度1.1g/Lの ポリ(L-リジン)の添加の 後10分	0.025
0.3%の濃度2.2g/Lの ポリ(ε-スルファミノ-L- ノルロイシン)の添加の後 10分	0.415

1.1g/Lの濃度で、ポリ(L-リジン)はこ
のように血小板の非常に大きな凝集を引き起こす。

7.4秒	8.2	10.4	11.4	13.6	17.5	23.6	30.0	40.6
	27.5nm/L	55	82.5	110	137.5	165	200	275
改良していないクエン酸塩を含む血液	+	+	+	+	+	+	+	+
	"	"	"	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"	"	"	"
	"	"	"	"	"	"	"	"

逆に、ポリ(ε-スルファミノ-L-ノルロイシ
ン)はこれらの血小板に対し、2.2g/Lの濃度
でさえも、全然作用をもたない。

実施例 18

実施例14の条件に類似の条件下で、クインク
時間を、実施例4に記載したように製造した[L-
リジン]-[Nε-(2-カルボキシエチル)-
L-リジン]コポリマーの量を漸次増大させて
存在させ、クエン酸塩を含む大の血液について決
定する。

次の値を得る：

特許出願人 ローン・ブーラン・エス・ア

代 理 人 弁 理 士 小 田 島 平 吉

5. 添付書類の目録

- (1) 明 細 書 1 通
~~要 約 書 1 通~~
 (2) 委任状及びその訳文 各 1 通
~~特許代理人及びその訳文 各 1 通~~
~~特許代理人、法人証明書並びにその訳文 各 1 通~~
 (3) 優先権証明書及びその訳文 各 1 通
 但し上記(2)及び(3)の書面は過つて補充する。

3行削除

6. 前記以外の発明者、特許出願人または代理人

- (1) 発 明 者
 フランス國オードセーヌ・プール・ラ・レーヌ・
 住 所 プールグアール・ドウ・マルシヤルジョフル84
 氏 名 ギイ・ブーラツト
 住 所
 氏 名
 住 所
 氏 名
 住 所
 氏 名

(2) 特 許 出 願 人

住 所
 名 称
 (氏名)
 代表者
 職 名

(3) 代 理 人

住 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号
 日 本 自 転 車 会 館
 氏 名